



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 18 Absatz 2 Patentgesetz

(19) DD (11) 227 029 A3

4(51) G 01 N 27/30

## AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

---

(21)	WP G 01 N / 239 815 8	(22)	13.05.82	(45)	04.09.85
------	-----------------------	------	----------	------	----------

---

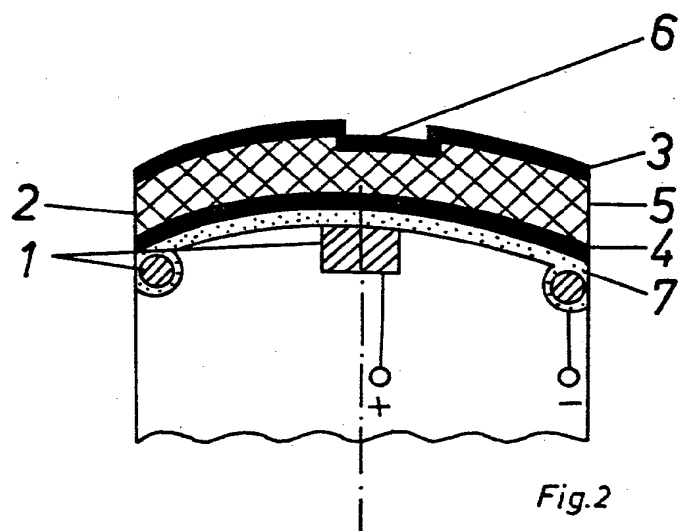
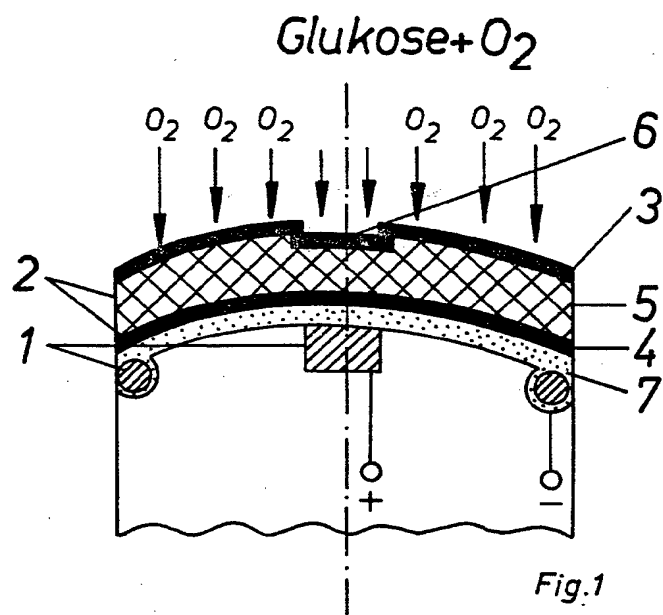
(71)	Zentralinstitut für Diabetes „Gerhardt Katsch“, 2201 Karlsburg, Greifswalder Straße 11, DD
(72)	Abel, Peter, Dipl.-Ing., DD

---

**(54) Enzymelektrode zur Glukosemessung**

---

(57) Die Erfindung betrifft eine Enzymelektrode als Meßwertgeber für Glukosemessungen, insbesondere bei hoher Glukosekonzentration. Ziel der Erfindung ist eine miniaturisierte Enzymelektrode zur Bestimmung der Glukosekonzentration ohne vorherige Verdünnungsschritte für implantierbare Glukosekontrollierte Insulininfusionseinrichtungen. Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, den linearen Meßbereich der bekannten Enzymelektrode zu erweitern. Dies erfolgt erfindungsgemäß durch die Anwendung der kombinierten hydrophoben/hydrophilen Trennmembran 3; 6 zwischen Probe und Enzymschicht 5 der Sandwich-Membran. Die durch diese Membrangestaltung mögliche Realisierung unterschiedlich großer Diffusionsflächen für Glukose und Sauerstoff bewirkt, daß die Glukosediffusion in der Weise limitiert wird, daß auch bei maximaler Glukosekonzentration in der Blutprobe immer Sauerstoffüberschuß in der Reaktionsschicht 5 vorhanden ist, so daß die gesamte, in die Reaktionsschicht diffundierte Glukose vollständig umgesetzt wird. Anwendungsgebiet ist die künstliche B-Zelle sowie Glukosebestimmung in klinischen und klinisch-chemischen Laboratorien. Fig. 1



#### Erfindungsansprüche:

1. Enzymelektrode zur Glukosemessung, insbesondere bei hoher Glukosekonzentration, **gekennzeichnet dadurch**, daß zur Erweiterung ihres linearen Meßbereiches zentrisch über den Elektrodenanschlüssen in die hydrophobe Membran (3) der Sandwich-Membran (2) mit eingebettetem Enzym (5) eine Perforation, deren Größe die Steilheit der Eichkurve der Enzymelektrode variabel gestaltet, angeordnet ist und die Perforation der hydrophoben Membran (3) durch eine zusätzliche hydrophile Membran (6) verschlossen ist.
2. Enzymelektrode nach Punkt 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß zur Variation der Grenzen ihres linearen Meßbereiches die Perforation in der hydrophoben Membran der Sandwich-Membran exzentrisch über den Elektrodenanschlüssen anzuordnen ist.

Hierzu 1 Seite Zeichnungen

#### Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft eine Enzymelektrode zur Glukosemessung, insbesondere bei hoher Glukosekonzentration, und ist besonders geeignet als Glukosesensor bei implantierbaren künstlichen Beta-Zellen, deren Aufgabe es ist, bei Diabetikern stetig die Glukosekonzentration im Blut zu kontrollieren und mittels eines elektronischen Regelungssystems automatisch die bedarfsgerechte Insulinmenge zur Verhütung von diabetischen Komplikationen, wie z. B. Hypo- und Hyperglykämien, zu injizieren. Weitere Anwendungsgebiete sind glukosekontrollierte Therapiemaßnahmen, alle Situationen der kontinuierlichen oder quasikontinuierlichen Blutglukoseüberwachung und Glukosebestimmungsmethoden in klinischen und klinisch-chemischen Laboratorien.

#### Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Eine Enzymelektrode zur Bestimmung von Glukose mit einem elektrochemischen Sensor, der zusammen mit einer semipermeablen Membran einen Bereich begrenzt, in dem der Akzeptor in teilweise ungelöster Form und das Enzym vorliegt, ist in der Patentschrift DE-AS 2243962 beschrieben worden.

Durch K. Ito, K. Ohta et al., Comparative studies of glucose sensors between enzyme membrane and electrochemical aspects, in Artificial Organs, Vol. 2, 1978, S. 244–246 und K. Itoh, K. Ohta, T. Kondo et al., Glucose sensors for the implantable artificial Beta-cell, in Proceedings of the International Conference in Cybernetic and Assiety, 1978, Vol. 1, S. 145–148 ist weiterhin der Aufbau von Enzymelektroden als Glukosesensoren bekannt geworden, die so gestaltet sind, daß der eigentlichen Clark-Elektrode eine sogenannte Sandwich-Membran, bestehend aus einer hydrophilen, glukosepermeablen und einer hydrophoben, gaspermeablen Membran oder einer weiteren hydrophilen,  $H_2O_2$ -permeablen Membran mit zwischengelagertem, an einen Träger fixierten Enzym GOD, vorgelagert ist. Durch die hydrophile Membran, die die Enzymschicht von der Blutprobe trennt, diffundieren Glukose und Sauerstoff und zwar in dem Maße, daß die in die Reaktionsschicht GOD gelangende Glukose nicht in jedem Fall vollständig umgesetzt werden kann.

Der Nachteil dieser bekannten Enzymelektroden besteht in der nicht eindeutigen Zuordnung der Glukosekonzentration zum Sensorsignal bei Überschreitung der Grenzen des linearen Meßbereiches aufgrund des relativen Sauerstoffmangels. Da diese Enzymelektroden ausschließlich **im verdünnten Vollblut arbeiten können**, ist ihr Einsatz auf bettseitige Blutglukosemeßplätze bzw. Laboranordnungen beschränkt und somit nur teilweise in extrakorporalen Beta-Zellen verwendbar. Der enge begrenzte lineare Meßbereich beinhaltet zwangsläufig, daß zur Gewinnung des verdünnten Vollblutes dem Probanden kontinuierlich bzw. quasikontinuierlich Blut entnommen, für die Glukosemessung aufbereitet und nach der Messung verworfen werden muß. Weiterhin ist die Verdünnung der Blutprobe mit einem beträchtlichen apparativen Aufwand verbunden.

#### Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung ist eine Enzymelektrode für Glukosemessungen, die geeignet ist, auch bei hoher Glukosekonzentration und in miniaturisierter Ausführung mit optimaler Zuverlässigkeit zu arbeiten und somit den Anforderungen an eine implantierbare Glukosemeßeinrichtung zu genügen.

#### Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, den linearen Meßbereich der Enzymelektrode hinsichtlich des **Verhältnisses zwischen Sensorstrom und Glukosekonzentration** in dem Maße zu erweitern, daß beliebige im Individuum auftretende Blutglukosekonzentrationen ohne vorherige Verdünnung des Blutes kontinuierlich gemessen werden können. Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß bei der Enzymelektrode anstelle der bekannten hydrophilen Trennmembran zwischen Reaktionsschicht der Sandwich-Membran und Blutprobe des Individuums eine gasdurchlässige, hydrophobe Membran angeordnet wird, die in definiertem Maße perforiert ist. Die Perforation der Membran wird zur Verhinderung des Abspülens des unter der hydrophoben Membran befindlichen trägerfixierten Enzyms mit einer zusätzlichen hydrophilen Membran verschlossen. Mit der Größe der Perforation kann die Steilheit der Eichkurve der Enzymelektrode geändert werden. Zur Variation der Grenzen des linearen Meßbereiches des Sensorstroms in Abhängigkeit von der Blutglukosekonzentration wird erfindungsgemäß die Perforation in der hydrophoben Membran der Sandwich-Membran exzentrisch über dem Elektrodensystem des Enzymsensors angeordnet.

### Ausführungsbeispiel

Die Erfindung soll anhand eines Ausführungsbeispieles gemäß Fig. 1 und Fig. 2 näher erläutert werden. Dabei stellen dar:

Fig. 1: Enzymelektrode mit großem linearem Meßbereich

Fig. 2: Anordnung der Enzymelektrode zur Variation der Grenzen des linearen Meßbereiches

Die Enzymelektrode zur Glukosemessung, insbesondere bei hoher Blutglukosekonzentration, besteht aus der Clark-Elektrode 1 mit der Sandwich-Membrananordnung 2, die aus der hydrophoben Membran 3 und der hydrophilen Membran 4 besteht. Zwischen diesen beiden Membranen 3, 4 ist an einen Träger fixiert das Enzym 5, Glukoseoxidase, zwischengelagert. Die hydrophobe, gaspermeable Membran 3 ist erfindungsgemäß perforiert. Als Material für diese Membran eignet sich Teflon, Polyäthylen u. a. Gegen das unbeabsichtigte Abspülen des in der betriebsfähigen Enzymelektrode unter der perforierten hydrophoben Membran 3 gelagerten Enzyms 5, z. B. Glukoseoxidase, ist die Perforation enzymseitig mittels der flächenmäßig sehr kleinen hydrophilen Membran 6, z. B. Zelluloseazetat, die als Dialysiermembran dient, verschlossen. Gleichzeitig verhindert die hydrophile Membran 6 das Eindringen von störenden Substanzen aus der Blutprobe durch die Perforation in die Reaktionsschicht, das Enzym 5, und garantiert somit die unerläßliche Schutzfunktion für das Enzym. Durch die erfindungsgemäße Kombination von hydrophober und hydrophiler Membran 3, 6 ist das Verhältnis der Flächen für die Sauerstoff- und Glukosediffusion aus der Blutprobe definiert einstellbar. Es wird erreicht, daß die Glukosediffusion bei ungehinderter Sauerstoffdiffusion erfindungsgemäß in dem Maße limitiert wird, wie es zur Realisierung eines stets vollkommenen Glukoseumsatzes in der Reaktionsschicht, der Enzymschicht 5, des Glukosesensors erforderlich ist.

Weiterhin läßt sich die Grenze des linearen Meßbereiches durch definierte Veränderung der geometrischen Zuordnung des Glukosediffusionskanals zur unter der Sandwich-Membran 2 und im Elektrolyt KCL 7 angeordneten Elektrodensystem gemäß Fig. 2 zuverlässig variieren. Dieser Effekt wird dadurch hervorgerufen, daß bei entsprechender exzentrischer Anordnung des Glukosediffusionskanales zum Elektrodensystem ein Teil der ohnehin schon in der Diffusion durch Membran 6 limitierten Glukose seitlich neben der Arbeitselektrode, der Anode der Enzymelektrode, in der Enzymschicht 5 umgesetzt wird und das dabei entstehende  $H_2O_2$  umgehend zerfällt, ohne vorher einen Beitrag zum Sensorsignal zu liefern.